

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

## SULFATED POLYSACCHARIDE DS 4152 AND VASCULARIZATION INHIBITOR AND ANTITUMOR AGENT CONTAINING THE SAME

Patent Number: JP63119500

Publication date: 1988-05-24

Inventor(s): INOUE KAZUKIYO; others: 03

Applicant(s): DAI ICHI SEIYAKU CO LTD

Requested Patent: JP63119500

Application Number: JP19870125443 19870522

Priority Number(s):

IPC Classification: C07K15/14; A61K31/725; A61K37/02; C08B37/00; C12P19/04

EC Classification:

Equivalents: JP2544136B2

---

### Abstract

---

**NEW MATERIAL:** A sulfated polysaccharide DS 4152 having the following physical and chemical properties. Molecular weight, 29,000+ or -3,000; elemental analysis (%), C 24.42-25.76, H 3.34-3.98, N 0.51-0.89, S 10.6-11.7, P 0.77-1.06; sugar content, 57+ or -3; protein content, 1+ or -0.5; specific rotation,  $[\alpha]D_{25} = -37 + -1$  deg. (0.5% aqueous solution); main IR absorption band, 1,240, 840 (shoulder), 810 (cm<sup>-1</sup>; KBr); solubility, easily soluble in water and almost insoluble in organic solvents such as ether, benzene, chloroform, methanol, ethanol, etc.; pH, 6-8 (3% aqueous solution); etc.

**USE:** A vascularization inhibitor and antitumor agent. The activity can be promoted when combined with a steroid drug.

**PREPARATION:** For example, pyrogenic substance, etc., having a molecular weight of  $>=15 \times 10^4$  are removed by a proper molecular weight fractionation method from DF 4639 separated from a cultured product of *Arthrobacter* sp. AT (FERM P-5255).

---

Data supplied from the esp@cenet database - I2

1986

① 日本国特許庁 (JP) ② 特許出願公開  
 ③ 公開特許公報 (A) 昭63-119500

④ Int.Cl. ⑤ 鑑別記号 ⑥ 厅内登録番号 ⑦ 公開 昭和63年(1988)5月24日  
 C 07 K 15/16 8318-4H  
 A 61 K 31/725 ABL 7252-4C※審査請求 未請求 発明の数 5 (全13頁)

⑧ 発明の名称 硫酸化多糖体DS 4152並びにこれを含有する血管新生抑制剤及び抗  
腫瘍剤  
 ⑨ 特願 昭62-125443  
 ⑩ 出願 昭62(1987)5月22日  
 ⑪ 优先権主張 ⑫ 昭61(1986)5月23日⑬ 日本 (JP) ⑭ 特願 昭61-118847  
 ⑮ 発明者 井上 和弘 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内  
 ⑯ 発明者 田中 紀子 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内  
 ⑰ 発明者 是永 博 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内  
 ⑱ 出願人 第一製薬株式会社 東京都中央区日本橋3丁目14番10号  
 ⑲ 代理人 弁理士 有賀 三季 外2名  
 最終頁に続く

明細書	グラクトース(単糖)
1. 発明の名称	蛋白含量(%) : 1±0.5 (ローリー・フォ リシ法、牛血清アルブミン 標準)
2. 特許請求の範囲	(1) 比旋光度 (a) <sub>D</sub> <sup>20</sup> -37° ± 1° (0.5%水溶液)
(1) ナトリウム塩として下記の物理化学的性質 を有する硫酸化多糖体 DS 4152。	(2) 赤外線吸収スペクトルにおける主要吸収帶 1240, 840(弱), 810(=); 1377
(1) 分子量(ゲルろ過法による)	(3) 溶解性 水に易溶。エーテル、ベンゼン、クロロホ ルム、メタノール、エタノール等の有機溶媒 には殆ど不溶。
29000±3000	(4) 色色反応 フェノール-硫酸、アンスキン-硫酸、ビ ニレット反応およびマーク-フオリン反応
(2) 元素分析値	C 24.42~25.76% H 3.34~3.98% N 0.51~0.59% S 1.06~1.17% P 0.77~1.06%
(3) 錠剤および蛋白質の含量	蛋白含量(%) : 57±3 (フェノール-硫酸法、 ユレット反応およびマーク-フオリン反応)

は陽性。水解液のエルシン・マルガン反応か  
及びエンヒドリン反応も陽性。カルバゾール  
反応か及び坂口反応は陰性。

(ii) 酸性、中性、鹼性的识别

pH 6~8 (3% 酵素水溶液)

(iii) 氨基酸か及び胺類基、糖の含有

ローダルコース、ローガラクトース、 $\alpha$ -D-N-  
セオジア(糖)の含有モル比はローダルコ-  
ースを1.0としてそれぞれ約1.0:6.1:7.3  
:8である。

(iv) 蛋白アミノ酸か及びアミノ酸

抽出水分解物のアミノ酸分析計による分析  
で、アラニン、グリシン、グルタミン酸、シ-  
アミノピメント酸、アルコオキシカントビムク  
ミン酸の存在を認める。

本の同様第6項記載の血管新生抑制剤。

2. 硫酸化多糖体 DS-4152 と、ステロイド用  
とを有効成分として含有する抗腫瘍剤。

3. 癌弱の構造を説明

(臨床上の利用分野)

本発明は、肝臓を硫酸化多糖体 DS-4152  
並びにこれを有効成分として含有する血管新  
生抑制剤及び抗腫瘍剤並びにこれと共にステ  
ロイド用を含有する血管新生抑制剤及び抗腫  
瘍剤に関する。

(従来の技術及びその問題点)

従来、ミクロコッカス sp. AT-26 の胞膜  
生産物中に癌弱作用、免疫抑制作用およ  
びインダーフェロン誘導作用を有する硫酸化  
多糖体 DP-4630 が存在することが知られて

特開昭63-119500(2)

2. 硫酸化多糖体 DS-4152 を有効成分として  
含有する血管新生抑制剤。

2. リニーマテ性固形炎、増殖性肉芽炎、肥厚、  
糖尿病性網膜炎、未熟児網膜症に有効を特許技  
術の範囲第2項記載の血管新生抑制剤。

4. 硫酸化多糖体 DS-4152 を有効成分として  
含有する抗腫瘍剤。

5. 硫酸化多糖体 DS-4152 と、ステロイド用  
とを有効成分として含有する血管新生抑制剤。

6. ステロイドが細胞コレクション、液体ホ  
ルモン類、エストラン類及びアンドロスタン  
類から選ばれたものである特許技術の範囲第  
6項記載の血管新生抑制剤。

7. リニーマテ性固形炎、増殖性肉芽炎、肥厚、  
糖尿病性網膜炎、未熟児網膜症に有効を特許技

いた(特開昭58-67301号、特開昭57-  
42827号及び特開昭59-25329号)。

本発明者らは、従々の有用性の期待される  
硫酸化多糖体 DP-4630 について生物学的特  
性を明らかにすべく検討をかこつた結果、  
DP-4630 が強い癌弱性を有することを知つ  
た。

(同様を解決するための手段)

そこで、本発明者らは、この癌弱性物質を  
まずすべく、更に研究をかこなつていたところ、  
DP-4630 は、いくつかの成分の混合物  
であり、そのうち DS-4152 と名づけられ  
た一成分は癌弱性がなく、しかも優れた血管  
新生抑制作用及び抗腫瘍作用を有することを  
見出した。

特開昭63-119500(3)

更にまた、本発明者は、このDS-4152とステロイド剤とを組合せると血管新生抑制作用及び抗腫瘍作用が相乗的に増強されることを見出した。

本発明は、上記の如きに古くものである。その目的は、新規な変態化多糖体DS-4152を提供するものである。

又、本発明の他の目的は、変態化多糖体DS-4152を有効成分として含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤を提供するものである。

更に、本発明の他の目的は、変態化多糖体DS-4152とステロイド剤とを有効成分として含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤を提供するものである。

本明細書中の「血管新生抑制剤」とは、以下の

通り、実体形成、組織の増殖等に歯めて重要なだけでなく、膵臓リューマチを含む慢性炎症、免疫反応、結核性肉芽等の病的状態にシテてもその病体の過盛に歯く活性している血管の新生作用を歯めることをいう。したがつて、血管新生抑制剤は、上記血管の新生作用が亢進する病状即ち、例えばリューマチ性関節炎、增殖性膀胱炎、肥厚、糖尿病性膀胱炎、未熟児肺疾患等の治療、予防に有用なものである。特に膀胱は強い血管新生を歴し、新生された血管より供給される血液がさらに血管の増殖と過盛を促進するとされているので、抗腫瘍剤としても有効である。

本発明の変態化多糖体DS-4152は、アルスロバクター AT-25 (工業技術院生

物工業技術研究所)には、Micrococcus sp. AT-25として、PERM P-5255及びArthrobacter sp. AT-25としてPERM SP-13570 (登録番号で登録されている)の培養液から分離されるDP-4639 (特開昭60-67301号参照)から、その中に含まれる分子量約 $1.8 \times 10^6$ 以上の異鳥性物質等を適当な分子量分画法、例えばゲルろ過法や膜外ろ過法、アルコール沈殿法で歯くことによつて得られる。

すなわち、ゲルろ過法によればDP-4639を適当なゲルろ過媒体、例えば、セファタリル [Sephadex G-300 (ファルマシア社)]を用いてゲルろ過を行い、得られるフラクションについて高圧ゲルろ過クロマトグラフィ

- (高压ソーダ液 $0.3\text{M}$  SWカラム使用)を行ひ、検出限界 (ペイド・ペリューム、 $\pm 0.1\text{ volume}$ ) にピークを示すフラクション (L部分)とペイド・ペリュームにゼークを示す分子量約 $2 \times 10^6 \sim 8 \times 10^6$  の範囲に露出されるフラクション (H部分)を各々歯り、透析する。

また、膜外ろ過は通常を歴く (例えばAmico社製のTM10、TM30、XM50、PM30やMillipore社製のNOVAP100、OKEGAI100、NOVAGO、OKEGASO 等等にTM10) を用い、脱気ガスとなる加压またはヘリウムガス ( $0.01\text{atm}$ ) パンプによつて加压 ( $0.5 \sim 5\text{kg/cm}^2$  程度) し、透通度を DS-4152として歴めればよい。使用溶媒は、水-エタ

ノール(10:2~3)または水が適当であり、4℃乃至室温で行なうのが一般的である。

得られた各選択溶液を濃縮後ろ過し、ろ液を数倍量のエタノール中に溶解下注ぐことにより生成する白色沈澱を洗浄、90%エタノール、エタノール、アセトシンの順に洗つた後、減圧乾燥すれば、目的とする DS 4152 (L 部分)と熱感性物質 (E 部分) が各々得られる。

こうして得られる DS 4152 は以下に述べる物理化学的特性を示す。下記の特性はそのナトリウム塩についてのものである。

#### (III) 分子量 (ゲルろ過法による)

28000±3000

#### (IV) 元素分析値 (5% フトの値を示す)

ルム、メタノール、エタノール等の有機溶媒には溶離しない。

#### (V) 着色反応

エタノール-硫酸、アンスォーン-硫酸、ビニレット反応およびヨーリー・フォリン反応は陽性。水溶液のエルソン・カルダン反応およびエンヒドリン反応も陽性。カルバゾール反応および坂口反応は陰性。

#### (VI) 増殖性、中性、酸性の区別

pH 6~8 (3% 酸性水溶液)

#### (VII) 脱成アミノ酸およびアミノ酸

D-グルコース、D-ガラクトース、D-NH<sub>2</sub>カシミー (A) の含有モル比は D-グルコースを 1.0 としてそれぞれ約 1.0:6.1:7.3:6 である。

特開昭63-119500 (4)

C 24.42~25.76% H 3.34~3.98%

N 0.51~0.69% S 1.06~1.17%

P 0.77~1.06%

#### (VIII) 水溶性アミノ酸の含量

酸含量 (%): 6.7±3 (フェノール-硫酸法、ガラクトース標準)

蛋白含量 (%): 1±0.5 (D-グルコサミン法、牛血清アルブミン標準)

#### (IX) 比旋光度

(a)<sub>D</sub><sup>25</sup> -37°±1° (0.5% 水溶液)

(X) 紫外吸収スペクトルにおける主要吸収波長  
1240, 840 (M), 810 (cm<sup>-1</sup>; KBr)

#### (XI) 溶解性

水に易溶。エーテル、ベンゼン、クロロ

#### (XII) 脱成アミノ酸およびアミノ酸

酸加水分解物のアミノ酸分析計による分析で、アラニン、グリシン、グルタミン酸、シアミノピメント酸、グルコサミンおよびムクミン酸の存在を認める。

以上 DS 4152 は、後記実験例で示す如く、单独でも血管新生抑制作用を有するものであるが、ステロイド類と組合せることにより、更に優れた血管新生抑制作用を示す。

尚、本発明の血管新生抑制剤においては、DS 4152 の代りにヘパリン、低分子ヘパリン等を使用することもできる。

使用、ブレドニゾロン、ローマナルデドニゾロン、ダイサメチゾン等のステロイドホルモンが、炎症性疾患、皮膚疾患、ヘルニア

一概に実験的に開発された血型新生を抑制する作用を有することが報告されている

(Cancer Res. 30 1308(1970) J. Hall,

Cancer Res. 31 760(1971) J. C. Pross.

Hall, Proc. Soc. U.S.A. 78 1176(1981))。

また、ステロイドホルモンのうち、雄性ホルモン（アレドニソン、アレドニゾン、ペタメナゾン等）は白血病、悪性リンパ腫、乳癌、乳癌細胞の治療に使用されている。

更に、アンドロスタンを母核とする男性ホルモンであるテストステロンプロピオニート、フルオキシメスチロン等が飲食療法用として用いられており、20~30%の有効率が得られると報告されている (Oncology 10 72(1964))。

ソロンかおよびその関連体（アセテート、ヘミアクシネット、フォスファート、アチルアセテート、ナトリウムフタレート、トリメタメアセテート等）；メチルアレドニソンかおよびその関連体（アセテート、ヘミアクシネット等）；ペタメナゾンかおよびその関連体（フォスファート、バレレート等）が挙げられる。

また、グルココルチコイドOC-11位の水酸基が水素になつた異性体（たとえば、11 $\beta$ -エピヘキソドコーソン）も含まれるし、前記グルココルチコイドのナトラヘキドの代物（グルココルチコイド活性の有無は確認しない）も含まれる。

更に、荷体ホルモンであるアロゲステロン、

特開昭63-119500(5)

更にまた、アロゲステロンの関連体、テストステロンの関連体かおよびエストロジニンが乳癌細胞の治療に用いられている。

荷E08 4152と組合せ用いこととされるステロイド類は、荷重コルチコイド類、荷体ホルモン類、エストラン類及びアンドロスタン類等であり、より具体的には次のものが開示される。

- (1) アレドナノを母核とするステロイドホルモン、すなわちグルココルチコイドであり、たとえばコーテゾンかおよびその関連体（アセテート、エナンテート、クンデシレート等）；ヘキドコーゼゾンかおよびその関連体（アセテート、ヘミアクシネット、カブロエート等）；アレドニゾンかおよびその関連体；アレドニ

メドコサクロゲステロンかおよびその関連体（アセテート等）；ダイドロゲストロンかおよびセオリテアセトキシ関連体（デュフェストン）等が挙げられる。

更にまた、（キラコルチコイドであるアルドステロン、デキサコルチコステロンかおよびその関連体（アセテート、トリメチルアセテート、エナンテート、フェニルプロピオニート等）も挙げられる。

- (2) アンドロスタンを母核とするステロイドホルモン、すなわち、男性ホルモンであり、たとえば、アンドロステロン、テストステロンかおよびその関連体（プロピオニート、エナンテート、アレート、カブリレート等）が挙げられる。また、エピテオスターノールかおよび

その日液体、ビピテオスタンがあげられる。さらにフルオキシメスチロン類及びその誘導体、メテルテストロン類及びその誘導体、ステノロン類及びその誘導体も含まれる。

(ii) エストランを母核とするステロイドホルモン、すなわち、性ホルモンであり、たとえば、エストロン類及びその誘導体、エストラジオール類及びその誘導体(ベンゾエート、グリコビオネット、バレレート、ウンデセノエート等)、エストリオール類及びその誘導体(トリプロビオネット等)があげられる。

本発明の血管新生抑制剤の用量としては、有効成分を医学的に許容される量、即ち用を含有する種々の形態、例えば次または各種の被服用剤に適用させた服用、飲用、静注

である。医師による投与の場合は通常経口の1/5量が適量である。

また、本発明の血管新生抑制剤を抗腫瘍剤として用いる場合の投与方法及び用量も、既に上記と同じである。

#### (発明の効果)

本発明のDS-4152はそれ单独でもつても血管新生抑制作用を有するが、これを更にステロイド剤と組合せるとより強れた血管新生抑制作用を有する。

したがつて、DS-4152単独でもつても血管新生抑制剤として有用であるが、更にステロイド剤と組合せたものは相乗的に作用が増強されるので、例えば腫瘍血管の新生を抑制し、癌の増殖を防ぐ血管新生抑制剤として有

特開昭63-119500(6)

用、服用、注射用、点滴等が挙げられる。

本発明の血管新生抑制剤がDS-4152とステロイド剤とを含有するものである場合、これらをそれぞれ別個に上記用量の单用に調節して組合せ用とすることも、あるいは両成分を含む合用とし製造化することもできる。

本発明の血管新生抑制剤は、静脈内、皮膜内、経口、皮下、皮膚内、粘膜内または直腸内に投与することができます。そのDS-4152は、成人の経口一日量で、DS-4152として1~2000mg程度であり、ステロイドは男性ホルモン用、相対コルチコイド用で10~1000mg、通常30~60mgが適量で、重複していくのが好ましいことがある。ステロイド用では100~1200mgが適量

である。併せて本発明の効果を示す。

#### (実施例)

次に実施例を挙げ、本発明を更に詳しく説明する。

#### 実施例1

特開昭56-073019に記載の方法により、得られたDS-4152(50g)を15mlの0.1M NaClに溶解し、これを0.1M NaClで平衡化したカラム(セファクリルS-300; 50×80cm)にかけて同溶媒にて通過し、100gずつ漏出液を集めた。得られたフラクションについて高速ゲル渗透クロマトグラフィー(東洋ソーラー製 H3000 SWカラム、漏波の1/10倍量カラム洗浄液(0.5%)を行い、ダイアリザームにピーグをタグチ、

特開昭63-119500(7)

DS 4152 の物理化学的性質および生物学的性質を DP 4630 とびそのX画分と比較して示す。

(1) 離、蛋白、ミクとビト含量(表1表)

表1表

	1) 離(%)	2) ミク(%)	3) 蛋白(%)	4) ビト(%)
DS 4152	56	1.11	1.1	0.88
DP 4630	54	1.08	1.3	0.86
X画分	42	1.29	7.6	0.72

- 1) エタノール-脱脂法(ガラクトース検定)
- 2) アントノイドスの方法(C.A.Antecopellic, Acta Chem.Scand., 16, 1521 (1962))による
- 3) ハーリー・フォリン法(牛血清アルブミン検定)
- 4) チェンらの方法(P.S.Chen et al., Anal.Chem., 28, 1756 (1956))による。

(2) ガラクトース、グルコース、蛋白質および  
糖の構成モル比

液体を1規定液量中100℃で5時間加水分解しイオン交換樹脂で脱塩処理した後、常法によりアルギドールアセテートとしてガスクロマトグラフィーで分析した。また、蛋白質および糖のモル比は、ミクとビトの含量(%)から算出した。

表2表

	ガラクトース	グルコース	蛋白質	糖
DS 4152	61	10	23	46
DP 4630	62	10	23	46
X画分	62	10	69	46

表2表は、グルコースを1.0モルとした場合

各の各成分のモル比の1例である。

(3) 構成アミノ酸とビタミン類の同定

DS 4152 を3規定液量中、100℃で5時間加水分解した後、常法によりアミノ酸分析計にて分析した結果、アラニン、グリシン、グルタミン酸、シアヒノビノリン酸、グルコナミン酸とビタミン類のピータを認めた。

(4) 比旋光度:  $[\alpha]_D^{20} (+=0.9, \text{水})$

表3表

	比旋光度
DS 4152	-37
DP 4630	-36
X画分	-34

(5) グルコ糖基出バターン

表1図、表2図および表3図に、それぞれ

特開昭63-119500(8)

あると規定される。

(N) 耐熱性試験

日本実用方(第10改正)に準じて行つた  
耐熱性試験の結果を表4表に示す。

D8 4152, DP 4630 およびその他の高分子高  
ケル干渉ターマットラムを示す(支撑ソード  
R=3000, SWカラム使用, 温度0.1K  
昇温カリクム速度は、R=5, 0.04/分,  
恒温物質チャストラン $\pm 10$ ±20±40)。

(1) 紫外吸收スペクトル

240/440水溶液において220~340 nm  
に極大吸収は認められない。

(2) 紫外吸收スペクトル(ESR録)

1240, 840(N) ±20±10 nm-K, R  
電化多糖に特徴的な吸収を示す。

D8 4152の構造としては、主としてα-  
ガラクトースとβ-グルコースから成る複合  
高分子由来の多糖類を介してペ  
クナドグリカン部の結合した複合化多糖体で

以下省略

波長 nm	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	310	320	330	340
水溶液	0.45	0.40	0.30	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%水溶液	0.10	0.05	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%エタノール	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%アセトニン	0.30	0.15	0.08	0.04	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%メタノール	0.40	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%エタノール+10%アセトニン	0.50	0.25	0.12	0.06	0.03	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%メタノール+10%アセトニン	0.60	0.30	0.15	0.08	0.04	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%エタノール+10%メタノール	0.70	0.35	0.18	0.10	0.05	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%アセトニン+10%メタノール	0.80	0.40	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%アセトニン+10%エタノール	0.90	0.45	0.25	0.15	0.08	0.04	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%メタノール+10%エタノール	1.00	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%アセトニン+10%メタノール+10%エタノール	1.10	0.55	0.35	0.25	0.15	0.08	0.04	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン	1.20	0.60	0.40	0.30	0.20	0.10	0.05	0.03	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%エタノール	1.30	0.65	0.45	0.35	0.25	0.15	0.08	0.04	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン	1.40	0.70	0.50	0.40	0.30	0.20	0.10	0.06	0.03	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%エタノール	1.50	0.75	0.55	0.45	0.35	0.25	0.15	0.08	0.04	0.03	0.02	0.01	0.00	0.00
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	1.60	0.80	0.60	0.50	0.40	0.30	0.20	0.10	0.06	0.04	0.03	0.02	0.01	0.00
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%エタノール	1.70	0.85	0.65	0.55	0.45	0.35	0.25	0.15	0.10	0.07	0.05	0.04	0.03	0.02
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	1.80	0.90	0.70	0.60	0.50	0.40	0.30	0.20	0.15	0.10	0.08	0.06	0.05	0.04
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%エタノール	1.90	0.95	0.75	0.65	0.55	0.45	0.35	0.25	0.18	0.12	0.10	0.08	0.07	0.06
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	2.00	1.00	0.80	0.70	0.60	0.50	0.40	0.30	0.20	0.15	0.12	0.10	0.08	0.07
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%エタノール	2.10	1.05	0.85	0.75	0.65	0.55	0.45	0.35	0.25	0.18	0.15	0.12	0.10	0.09
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	2.20	1.10	0.90	0.80	0.70	0.60	0.50	0.40	0.30	0.20	0.15	0.12	0.10	0.09
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%エタノール	2.30	1.15	0.95	0.85	0.75	0.65	0.55	0.45	0.35	0.25	0.20	0.15	0.12	0.11
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	2.40	1.20	1.00	0.90	0.80	0.70	0.60	0.50	0.40	0.30	0.25	0.20	0.15	0.14
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	2.50	1.25	1.05	0.95	0.85	0.75	0.65	0.55	0.45	0.35	0.30	0.25	0.20	0.19
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	2.60	1.30	1.10	1.00	0.90	0.80	0.70	0.60	0.50	0.40	0.35	0.30	0.25	0.24
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	2.70	1.35	1.15	1.05	0.95	0.85	0.75	0.65	0.55	0.45	0.40	0.35	0.30	0.29
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	2.80	1.40	1.20	1.10	1.00	0.90	0.80	0.70	0.60	0.50	0.45	0.40	0.35	0.34
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	2.90	1.45	1.25	1.15	1.05	0.95	0.85	0.75	0.65	0.55	0.50	0.45	0.40	0.39
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	3.00	1.50	1.30	1.20	1.10	1.00	0.90	0.80	0.70	0.60	0.55	0.50	0.45	0.44
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	3.10	1.55	1.35	1.25	1.15	1.05	0.95	0.85	0.75	0.65	0.60	0.55	0.50	0.49
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	3.20	1.60	1.40	1.30	1.20	1.10	1.00	0.90	0.80	0.70	0.65	0.60	0.55	0.54
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	3.30	1.65	1.45	1.35	1.25	1.15	1.05	0.95	0.85	0.75	0.70	0.65	0.60	0.59
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	3.40	1.70	1.50	1.40	1.30	1.20	1.10	1.00	0.90	0.80	0.75	0.70	0.65	0.64
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	3.50	1.75	1.55	1.45	1.35	1.25	1.15	1.05	0.95	0.85	0.80	0.75	0.70	0.69
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	3.60	1.80	1.60	1.50	1.40	1.30	1.20	1.10	1.00	0.90	0.85	0.80	0.75	0.74
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	3.70	1.85	1.65	1.55	1.45	1.35	1.25	1.15	1.05	0.95	0.90	0.85	0.80	0.79
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	3.80	1.90	1.70	1.60	1.50	1.40	1.30	1.20	1.10	1.00	0.95	0.90	0.85	0.84
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	3.90	1.95	1.75	1.65	1.55	1.45	1.35	1.25	1.15	1.05	1.00	0.95	0.90	0.89
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	4.00	2.00	1.80	1.70	1.60	1.50	1.40	1.30	1.20	1.10	1.05	1.00	0.95	0.94
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	4.10	2.05	1.85	1.75	1.65	1.55	1.45	1.35	1.25	1.15	1.10	1.05	1.00	0.99
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	4.20	2.10	1.90	1.80	1.70	1.60	1.50	1.40	1.30	1.20	1.15	1.10	1.05	1.04
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	4.30	2.15	1.95	1.85	1.75	1.65	1.55	1.45	1.35	1.25	1.20	1.15	1.10	1.09
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	4.40	2.20	2.00	1.90	1.80	1.70	1.60	1.50	1.40	1.30	1.25	1.20	1.15	1.14
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	4.50	2.25	2.05	1.95	1.85	1.75	1.65	1.55	1.45	1.35	1.30	1.25	1.20	1.19
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	4.60	2.30	2.10	2.00	1.90	1.80	1.70	1.60	1.50	1.40	1.35	1.30	1.25	1.24
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	4.70	2.35	2.15	2.05	1.95	1.85	1.75	1.65	1.55	1.45	1.40	1.35	1.30	1.29
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	4.80	2.40	2.20	2.10	2.00	1.90	1.80	1.70	1.60	1.50	1.45	1.40	1.35	1.34
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	4.90	2.45	2.25	2.15	2.05	1.95	1.85	1.75	1.65	1.55	1.50	1.45	1.40	1.39
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	5.00	2.50	2.30	2.20	2.10	2.00	1.90	1.80	1.70	1.60	1.55	1.50	1.45	1.44
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	5.10	2.55	2.35	2.25	2.15	2.05	1.95	1.85	1.75	1.65	1.60	1.55	1.50	1.49
10%アセトニン+10%メタノール+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン+10%アセトニン	5.20	2.60	2.40	2.30	2.20	2.10	2.00	1.90	1.80	1.70	1.65	1.60	1.55	1.54

の白色粉末を得た。

このものの物理化学的性質は、次に示す通り、蛋白、S及びPの含量を除き、実験例1例のDS 4152と同一であった。

蛋白含量 88%

S含量 11.3%

蛋白含量 99%

P含量 0.92%

高圧ゲル渗透チャートグラムを第4図に示す(0.3000mlカラム、0.1M硫酸ナトリウム緩衝液(pH 8.5)、0.6ml/分)。

#### 実験例2

##### 周径沈降蛋白質生産阻止試験(直接法):

周径を用い、タイマーとフォーマン

(Motore 207:307, 1962) の方法を一

べた。ステロイドとしては、コチニル酸アセテートと0.5mg/ml周径の量(血管新生抑制のない量)用いた。また、比較として、DP 4639及びE部分についてもその活性を調べた。この結果を第5表に示す。

#### 第5表

##### 50%血管新生阻止量(1D<sub>50</sub>量)

	DS 4152	DP 4639	E部分
1D <sub>50</sub> 量 (mg/周径)	3	30	600

#### 実験例4

実験例2と同様な方法で、各種ステロイドとDS 4152の併用による1D<sub>50</sub>量の変化を検討した。この結果、図4のステロイドに10

新開昭63-110500(9)

記載した以下の方法で行った。

馬(ノーリングクロス)の4~5日静文用の成年馬に、生理食塩水で溶解したりの4152又はヘパリンを投与し、37°Cで培養した。

実験開始2日後には、成年馬血管の発達度を生理食塩水のみを投与した对照と比較し、プロピット法により、50%血管新生阻止量(1D<sub>50</sub>量)を算出した。

この結果、本品のDS 4152の1D<sub>50</sub>量は、100mgである。これに対し、ヘパリンは、100mgでも作用を示さなかつた。

#### 実験例3

##### 周径沈降蛋白質生産阻止試験(直接法):

実験例2と同様にして、ステロイドと

DS 4152を併用した場合の効果について調

べた。DS 4152を加えれば、それぞれの周径沈降蛋白質生産阻止活性が10~100倍に増加することが明らかとなつた(第6表)。

#### 第6表

ステロイド	1D <sub>50</sub> 量(mg/ml周径)	
	単独	DS 4152(増加)と併用(倍率)
コチニル酸アセテート	120	0.17 (71倍)
ヘイドロコチニル	110	0.18 (69)
ブレチニン	130	0.08 (163)
6α-メチルブレチニン	115	0.03 (383)
ベタイン	0.80	0.05 (160)
トリヘキサオール	100	0.01 (1000)
プロゲスチン	102	0.49 (21)
メトロデンドロプロゲスチンアセテート	112	0.42 (27)
17β-エストラジオール	100	0.28 (70)
フルクルシニストロン	124	0.12 (103)
5α-アンジロスタン	232	0.29 (8)

実験例5

血管新生阻止作用(00-0100年)：

Ds 4152 を生理食塩水に溶解し、ICR系  
マウスに皮下もしくは縫合で投与し、6日  
間後に血液を採取した。0.313%タエン酸  
ナトリウムで凝固を阻止し、直線法と同様に  
5倍的受精卵有膜胚に添加し、2日後に行  
定した。この結果を表7表に示す。

表7表

投与ルート	投与量 (mg/kg)	血管新生阻止率 (%)
縫合	3	~59
	30	224
	300	627
皮下	3	16
	30	328
	300	661

表8表

投与ルート	Ds 4152	DP 4630	百分率
皮下	92.2%	83.3%	86.6%
縫合	92.7%	84.8%	82.6%

Ds 4152 および DP 4630 は縫合、皮下  
いずれの経路によつても皮膚血管新生を抑  
制することが認められた。

実験例6

血管新生阻止作用(00-0100年)：

ICR系マウスに、生理食塩水に溶解した  
Ds 4152 を縫合投与した。ステロイドは、  
Ds 4152 と共にまたは単独で、生理食塩水  
に溶解して縫合または筋肉内投与した。

投与6時間後には止血し、0.313%タエン

新規物63-119500(10)  
Cの結果から明らかとなり、月量投与の  
血管新生抑制作用が認められた。

実験例6

血管新生阻止作用(00-0100年)：

実験例5と同様にして、ステロイドと  
Ds 4152 を併用した場合の効果について調  
べた。ステロイドとしては、赤松コーチン  
を5mg/kgの場合で用い、Ds 4152 は30  
mg/kg又は300mg/kgとなるよう調整して  
加えた。また、比較と DP 4630 及び其  
百分率を用いた。この結果を表8表に示す。た  
ゞ、表中の数値は、生理食塩水を同量投与し  
た対照マウスより採取した血液を加えた際、  
原液血液の発達度を100%とした時の阻止  
率である。

タエンナトリウムで凝固を阻止し、これを直線法  
と同様に5倍的受精卵有膜胚に加え、2日後  
に血管新生に及ぼす効果を判定した。結果は、  
同量の生理食塩水のみを投与したマウスの、  
6時間後過後の血液を加えた場合の原液血  
液の発達度を对照とし、阻止百分率で示した。  
この結果は次の通りである。

以下余白

ମନ୍ତ୍ରୀ ୬୩-୧୯୫୦୦ (୧୧)

冥府刑司

欽定四庫全書

C57BL/6雄マウスに同量の抗凝血素  
 本量を M5076 を  $1 \times 1.0^{\circ}$  頭皮下腹腔し、5  
 日目より 08:4152 を 3.0 ml / 日 1 回連  
 続頭皮下投与したところ、著明な抗凝血素  
 と生存日数の有意な相関が認められた。すな  
 わち第 10 日目に示すように多様な 18 日目の凝  
 血平均重量は对照群の 37% (0.3% 内前)  
 であり、かつメテイアン生存日数が对照群と  
 3.3% 増長した。

\*重量平均質量は、成績表の長辯と短辯の大きさを測定し、以下の式から求めた。

$$\text{平均重量} = (\text{長締}) \times (\text{短締}) : x \frac{1}{2}$$

實驗四

校園多媒體

IC2基礎マクス(8週目)にアルコール $160$ ( $\pm 160$ )を $1 \times 10^6$ 個皮下接種し、3日目より血液コーナソンの生理性糞水潜伏期を $250$ 回/ $\mu$ /80割合で39回、 $100$ 回/ $\mu$ /80割合で18枚午した。

D8 4153は生理食塩水に溶解し、gel  
もしくは0.1%マックスとなる量1日に回復  
下もしくは鼻口にて4日間投与した。各群7  
日目に腫瘍して腫瘍重量を对照と比較したと  
ころ第11表に示す如く西酸コーナシンのみ  
を投与した群では腫瘍重量は生理食塩水投与  
群と差がなかつたが、さらK D8 4153を投  
与することにより腫瘍を増殖阻止作用が現ら

機器名(ルーチン)	検査量(回/回)	08-4102R4E	検査所用止革 (kg/kg; %)
ヨードマジカル(1.0%)	0	0	7.7
ヨードマジカル(1.0%)	1	30	7.61
ヨードマジカル(1.0%)	1	0	-2.6
ヨードマジカル(1.0%)	0	30	7.47
ヨードマジカル(1.0%)	0	0	-17.3
ヨードマジカル(1.0%)	0	30	8.07
ヨードマジカル(1.0%)	0	0	4.0
ヨードマジカル(1.0%)	0	30	8.2
ヨードマジカル(1.0%)	0	0	1.84
ヨードマジカル(1.0%)	100	30	2.34
ヨードマジカル(1.0%)	100	0	2.42
ヨードマジカル(1.0%)	30	30	3.76

試験番号	年	平均値 (kg/m <sup>2</sup> )		標準偏差 (t/c%) (%)	MAX (t/m <sup>2</sup> )
		初期時	終期時		
NB070	昭和52年	0	23020.16 (100)	0	0
	昭和53年	30	20210.00 (97)	2.3	

ル、打開率の結果は0.00~125%であ  
つた。

表11表

品種	遮蔽度	
	平均値± 標準誤差	T/c%
生理食塩水(%)	Q361± Q101	1000
生理食塩水(%)	Q361± Q122	1000
赤穂コータン	Q340± Q162	94.3
DS 4152 (Q11q/acecc se)	Q361± Q070	1000
DS 4152 (Q11q/acecc se)	Q261± Q077	72.3
DS 4152 (Q11q/acecc se) +赤穂コータン	Q063± Q018	125°
DS 4152 (Q11q/acecc se) +赤穂コータン	Q028± Q011	24°
DS 4152 (Q11q/acecc se)	Q322± Q071	82.4
DS 4152 (Q11q/acecc se)	Q358± Q115	90.8
DS 4152 (Q11q/acecc se) +赤穂コータン	Q063± Q036	161°
DS 4152 (Q11q/acecc se) +赤穂コータン	Q038± Q018	49°

\* T<Q00. \*\* P<Q00. ステーデントt検定による  
検定による

日向ん3-119500 (12)

実用例10

試料用:

DS 4152 6%、乳酸300w、トウモ  
コシデンテン144g、カルボキシルカル  
ボースカルクタム30g及びヒドロキシ  
アルキルカルボス30gを用い、常法に従つ  
て800wON使用を実験した。この試料用  
は遮蔽度を合わせて185.00w~8%を服用  
する。

実用例11

試料用:

DS 4152 1.2%、塩化カルシウム90  
mgを注射用高脂水に溶解し、1.0mlとする。  
この溶液をノンアランフィルターでろ過した  
後、アンプルに充填し、1.15mlで30分間

放置し使用用とする。

実用例12

試用:

DS 4152 6%、ブレフェノン20g、  
乳酸50g、トウモコシデンテン144g、  
カルボキシルカルボースカルクタム30g、  
ヒドロキシアルキルカルボス30g及びステ  
アリン酸マグネシタム0.5gを常法に従つて  
混合、打鍛し、1袋とする。

4 図面の簡単な説明

図1図ないし図4図は高濃ゲルアミドチャ  
ルカラムである。

以上

図12

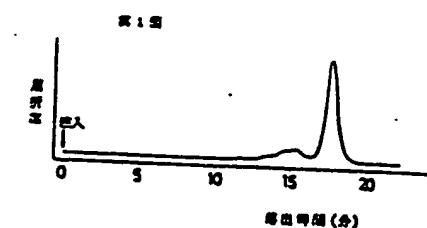
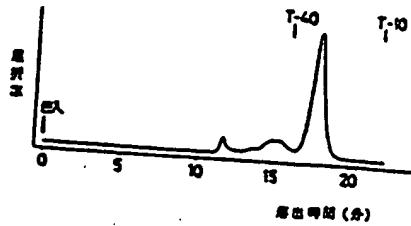


図22



特開昭63-119500 (13)

図3図

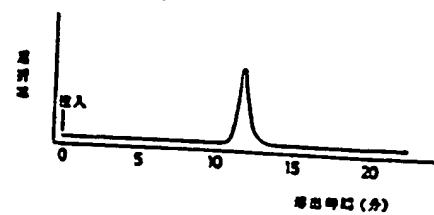
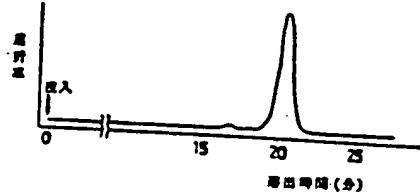


図4図



第1頁の続き

①Int.Cl.*	規別記号	厅内整理番号
A 61 K 31/723 37/02	ADU	8615-4C
C 08 B 37/00	ABE	6779-4C
C 12 P 19/04		C-8515-4B
II(A 61 K 31/723 31/58)		7252-4C

②発明者 小河 利正 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内